



**Kerman University of Medical Science
School of Dentistry**

**Kerman Oral and Dental Diseases Research Center
Kerman Neuroscience Research Center**

**For the degree of
Master of Science in Endodontics**

Title:

Evaluation of the mechanisms responsible for memory and learning reduction induced by tooth inflammatory pulpal pain with emphasis on brain-driven neurotrophic factor (BDNF) expression and apoptotic factors in the hippocampus of adult male rats

Supervisors:

**Dr. Maryam Raoof
Dr. Saeed Esmaeili-Mahani**

Advisor:

Dr. Mehdi Abbasnejad

By:

Dr. Mahdiah Nourzadeh

May 2013

Thesis number: 59



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده دندانپزشکی
مرکز تحقیقات بیماریهای دهان و دندان
مرکز تحقیقات علوم و اعصاب

پایان نامه :

جهت دریافت درجه دکترای تخصصی اندودانتیکس

عنوان :

بررسی مکانیسمهای مربوط به کاهش یادگیری و حافظه ناشی از درد التهابی پالپ دندان با تکیه
بر تغییر بیان فاکتور نوروتروفیک مغزی (BDNF) و عوامل آپوپتوتیک در هیپوکامپ موشهای
صحرائی نر بالغ

به راهنمایی اساتید ارجمند :

سرکار خانم دکتر مریم رئوف

جناب آقای دکتر سعید اسماعیلی ماهانی

استاد مشاور :

جناب آقای دکتر مهدی عباس نژاد

پژوهش و نگارش :

دکتر مهدیه نورزاده



Abstract

Aim: This study was carried out to assess the possible mechanisms responsible for memory and learning impairment induced by tooth inflammatory pulpal pain with emphasis on brain-driven neurotrophic factor (BDNF) expression and apoptotic factors in the hippocampus of adult male rats.

Materials and methods: Thirty-five adult rats were divided randomly to five groups (n=7) as follows: Control, Sham-operated group, Sham-vehicle group that received vehicle of capsaicin, Capsaicin-treated group that received intradental injection of 100 μ g capsaicin and Ibuprofen treated group that received ibuprofen before capsaicin injection. After cutting 2 mm of the distal extremities, the polyethylene crowns were placed on the mandibular incisors. Based on the study groups, different injections were administrated into the cavities under the crowns. After recording the pain scores, spatial learning and memory was assessed using Morris water maze (MWM) test. Then animals were decapitated and their hippocampus were removed for molecular methods. BDNF (brain-driven neurotrophic factor) gene expression level was analyzed with reverse transcriptase

polymerase chain reaction (RT-PCR) method and BDNF, Bcl-2, Bax and Caspase-3 protein levels were evaluated using immunoblotting.

Results: Statistical analysis showed that capsaicin-induced tooth inflammatory pulpal pain was correlated to learning and memory impairment. Moreover, Capsaicin-induced tooth inflammatory pulpal pain significantly decreased BDNF gene expression, BDNF protein level and increased Bax and Caspase-3 protein levels ($p < 0.05$) but there was not any significant difference in Bcl-2 protein level ($p > 0.05$). Meanwhile, reversed changes took place in pretreated ibuprofen group ($p < 0.05$).

Conclusion: It was demonstrated that memory and learning impairment induced by tooth inflammatory pain was correlated with BDNF protein and gene expression level reduction and activation of apoptotic pathways in hippocampus.

Key words: Tooth inflammatory pulpal pain, Capsaicin, BDNF, Bcl-2, Bax, Caspase-3

هدف: این طرح به منظور بررسی تعیین مکانیسمهای مربوط به کاهش یادگیری و حافظه ناشی از درد التهابی پالپ دندان با تکیه بر تغییر بیان فاکتور نوروتروفیک مغزی (BDNF) و آپوپتوز در هیپوکامپ موشهای صحرایی نر بالغ انجام شده است.

مواد و روشها: سی و پنج سر موش صحرایی به طور تصادفی به پنج گروه (7=n) شامل گروه های کنترل، شاهد جراحی، شاهد دریافت کننده حلال کاپسایسین، دریافت کننده کاپسایسین و گروه دریافت کننده ایبوپروفن قبل از تزریق کاپسایسین، تقسیم شدند. پس از تراش ۲ میلیمتری سطح دیستال دندانهای انسیزورمندیل، روکش پلی اتیلنی روی دندانها قرار داده شد. بر اساس گروههای مورد مطالعه تزریقات در فضای زیر روکش انجام شد. پس از ثبت نمره درد، شاخص های یادگیری و حافظه در تست ماز آبی موریس بررسی شدند. میزان بیان ژن BDNF با روش RT-PCR و میزان پروتئین BDNF، Bcl-2، Bax و Caspase-3 به روش ایمونوبلات در هیپوکامپ ارزیابی شد.

یافته ها: آنالیزهای آماری نشان دادند که درد پالپی ناشی از تزریق اینترادنتال کاپسایسین باعث اختلال در یادگیری و حافظه شد. علاوه بر این درد پالپی به طور معناداری باعث کاهش بیان ژن و پروتئین BDNF و همینطور افزایش میزان پروتئینهای Bax و Caspase-3 در هیپوکامپ شد ($p > 0.05$) ولی میزان پروتئین Bcl-2 تغییر معنی داری نداشت ($p > 0.05$). در حالیکه اثرات معکوس در پیش درمانی با ایبوپروفن مشاهده شد ($p > 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اختلال در یادگیری و حافظه ناشی از درد پالپی دندان، در ارتباط با کاهش بیان ژن و پروتئین BDNF و فعال شدن مسیرهای آپوپتوتیک در هیپوکامپ می باشد.

کلید واژه ها: درد التهابی دندان، کاپسایسین، BDNF، Bcl-2، Bax، Caspase-3